

FENOMENA BIOLUMINESSENSI CUMI-CUMI (*Loligo duvauceli*) BERASAL DARI BAKTERI SIMBION

Delianis Pringgenies

Jurusan Ilmu Kelautan

FPIK Universitas Diponegoro Semarang (UNDIP) Gedung A Dekanat
Jalan Prof. H. Soedarto, S.H. - Tembalang Semarang, Indonesia 50275

HP. 081390800800 / E-mail : pringgenies@yahoo.com

A B S T R A K

Tujuan penelitian adalah mengungkap simbiosis antara bakteri dengan organ cahaya cumi-cumi pada proses bioluminesensi dengan asumsi bahwa: kemampuan pencahayaan tidak dimiliki oleh organisme cumi-cumi itu sendiri; terjadi simbiosis antara cumi-cumi dan bakteri; dan proses simbiosis antara bakteri dengan cumi-cumi terjadi secara horizontal, yakni bakteri berasal dari luar dan besimbiosis pada cumi-cumi setelah menetas dari telur. Pemecahan masalah dalam penelitian ini dilakukan melalui aspek cumi-cumi dan bakteri, dan kemudian dianalisis tentang ketergantungan kedua organisme tersebut dengan cara: histologi organ sebagai sumber cahaya dengan metode mikroskop elektron transmisi (TEM) pada juvenil dan dewasa cumi-cumi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jenis cumi-cumi yang memancarkan cahaya memiliki sepasang organ cahaya menempel pada dorso-lateral kantung tinta. Organ cahaya sudah terbentuk sempurna pada cumi-cumi juvenil umur satu hari dan selanjutnya membesar mengikuti pertumbuhan cumi-cumi. Bakteri di dalam kantung bakteri merupakan bakteri yang hidup secara ekstraselular dan kerapatannya di dalam kantung meningkat sejalan dengan umur cumi-cumi juvenil sampai dewasa. Dari hasil analisis histologi kantung organ cahaya, didapat bahwa kantung organ cahaya cumi-cumi juvenil umur satu hari belum mengandung bakteri. Bakteri mulai dijumpai dalam koloni kecil pada cumi-cumi umur dua hari dan pada cumi-cumi yang lebih besar serta dewasa. Sel-sel bakteri terdapat dalam kerapatan yang padat di dalam lumen kantung hewan dewasa. Kehadiran bakteri pada organ cahaya cumi-cumi terjadi secara horizontal yang berarti bahwa bakteri berasal dari luar lalu masuk bersimbiosis ke dalam organ cahaya melalui saluran bersilia kantung setelah cumi-cumi menetas. Bioluminesensi yang terjadi dimanfaatkan cumi-cumi untuk strategi pertahanan melalui penyamaran dan mekanisme komunikasi antar lawan jenis.

Key words : Bakteri, simbion, cumi, organ cahaya

PENDAHULUAN

Makhluk hidup di alam harus mempunyai strategi agar dapat lulus hidup, strategi tersebut berbeda-beda untuk setiap individu. Salah satu strategi cumi-cumi dalam mempertahankan diri dengan cara memancarkan cahaya, oleh karena itu cumi-cumi perlu mengembangkan organ yang dimilikinya supaya dapat memancarkan cahaya. Akan

tetapi, cumi-cumi tidak mempunyai kemampuan untuk melakukannya sendiri.

Bagian pada bakteri tertentu memiliki potensi memancarkan cahaya dalam kondisi tertentu, yaitu dalam kondisi apabila sudah terjadi *quorum sensing*, artinya kondisi dimana ada sistem *auto inducer* yang bekerja dalam kerapatan sel bakteri yang tinggi. Dalam hal ini, bakteri membutuhkan suatu substrat agar kondisi *quorum sensing* berlangsung terus dalam

kehidupannya. Proses kolonisasi sel bakteri dengan kerapatan yang tinggi tidak dapat terjadi di alam bebas, maka bakteri perlu strategi dalam mencapai kerapatan sel yang tinggi untuk memanfaatkan kemampuan bercahaya yang dimilikinya.

Proses ko-evolusi yang sangat panjang maka terjadi proses simbiosis antara bakteri dan organ cahaya cumi-cumi sehingga bakteri mendapatkan *niche* yang cocok untuk berkembang dan dapat mengekspresikan kemampuan bioluminesensinya, dengan demikian cumi-cumi dapat memancarkan cahaya sebagai strategi kelulushidupan.

Simbiosis berasal dari bahasa Yunani yang artinya hidup bersama. Lebih jelas lagi dapat diartikan bahwa hubungan simbiosis merupakan interaksi antara dua atau lebih species dalam satu atau lebih organ pada satu organisme. Hubungan tersebut dibedakan dalam tiga tipe: yaitu: hubungan paratisme (hubungan yang saling merugikan dalam satu organisme), komensalisme (hubungan yang menguntungkan satu organisme tanpa mempengaruhi organisme yang lain) dan mutualisme (hubungan yang saling menguntungkan pada masing-masing organisme) (Campbell *et al*, 1994).

Ada 2 perbedaan informasi tentang simbiosis cumi-cumi, yakni: (1) Simbiosis secara vertikal (Pierantoni, 1914, 1918) dan Meissner (1926). Yang dimaksud dengan simbiosis secara vertikal, yakni proses simbiosis yang terjadi pada hewan berasal dari induk cumi-cumi, kemudian di turunkan ke generasi berikutnya (2) Simbiosis secara horizontal (Kishitani, 1928), Mortara (1922, 1924).

Pengertian simbiosis secara horizontal, yakni proses simbiosis berasal dari luar dan masuk bersimbiosis melalui saluran yang terdapat pada organ cumi-cumi setelah cumi-cumi menetas dari telurnya

Penyebab cumi-cumi memancarkan cahaya belum diketahui. Apakah peristiwa bioluminesensi pada cumi-cumi terjadi

akibat proses simbiosis dengan suatu bakteri tertentu, ataukah ada faktor lain yang berperan?. Untuk mengetahui hal ini, maka dilakukan penelitian tentang bioluminesensi pada cumi-cumi memancarkan cahaya, apakah peristiwa bioluminesensi terjadi akibat proses simbiosis; apakah betul pancaran cahaya disebabkan oleh bakteri simbiosis?. Untuk mengetahui hal ini, maka dilakukan penelitian tentang bioluminesensi organ cumi-cumi yang didapat dari perairan Jepara.

Berdasarkan permasalahan tersebut diatas, maka tujuan utama yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah mengungkap simbiosis yang terjadi pada proses bioluminesensi cumi-cumi.

METODE

Cumi-cumi juvenil umur 1 hari dan 2 hari, didapat dari hasil pemijahan dan pemeliharaan cumi-cumi di Balai Budidaya Air Payau- Situbondo, Jatim. Sedangkan cumi-cumi 2 cm dan 18 cm (dewasa) ditangkap langsung dari laut Jepara. Sampel yang digunakan dalam analisis histologi adalah cumi-cumi dewasa dan juvenil. Analisis histologi bertujuan, mengkaji komponen yang terdapat pada struktur organ cahaya cumi-cumi. Masing-masing organ cahaya cumi-cumi dimasukkan dalam ke botol sampel yang berisi larutan fiksasi 3 % formaldehyde/glutaraldehyde dalam 0,1 M phosphat buffer, untuk kemudian dilakukan analisis histologi dipreparasi untuk mikroskop elektron payar (SEM) dan mikroskop elektron transmisi (TEM).

Isolasi Bakteri

Bakteri diisolasi dari cumi-cumi dewasa yang dikoleksi dari laut pada malam hari. Sampel langsung dimasukkan ke dalam termos berisi es batu dengan tujuan agar sampel cumi-cumi tetap segar sampai di laboratorium Balai Besar Budidaya Air Payau, Jepara untuk

dianalisis. Organ cahaya dipisahkan dari cumi-cumi dengan cara menggunting bagian dorsal mantelnya dari arah anterior ke arah posterior. Organ cahaya tampak menempel pada kantung tinta. Kantung tinta dikeluarkan, kemudian organ cahaya dilepas dari kantung tinta. Organ cahaya dipisahkan dari lensanya kemudian dibelah, lalu digerus.

Setelah terjadi pertumbuhan koloni kemudian dipindahkan ke medium Nutrien Agar miring (tabung), untuk dijadikan kultur stok dan selanjutnya dilakukan penghitungan jumlah bakteri (Colome *et al.*, 1986) dilakukan dengan menggunakan medium Nutrien Agar (NA) dan trisalt (larutan tiga garam). Semua peralatan dan medium yang digunakan dalam keadaan steril.

Di dalam rongga mantel tampak organ-organ insang, lambung, gonad, pankreas, nefrida (ginjal), sekum, rektum, kantung tinta, kelenjar pencernaan. Pada kantung tinta terdapat sepasang organ bulat menempel pada lateral pada bagian dorsal kantung tinta.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kantung Tinta dan Organ Cahaya

Ukuran kantung tinta cumi-cumi dewasa berkisar antara 2 – 2,5 cm, semakin panjang ukuran cumi-cumi maka semakin panjang pula ukuran kantung tintanya. Kantung tinta berbentuk bulat panjang, yaitu kecil di bagian anterior dan melebar di bagian posterior. Kantung tinta bermuara pada rektum dekat anus, jadi cairan tinta dari kantung tinta ke luar melalui anus dan terus keluar melalui corong. Bagian permukaan dorsal kantung tinta berwarna perak, sedangkan bagian ventralnya berwarna gelap. Pada bagian dorsal kantung tinta ada garis tengah memanjang dari anterior ke posterior yang berwarna lebih gelap dibandingkan warna sekitarnya, bagian dalam kantung tinta terdapat kelenjar tinta.

Organ bulat lonjong yang terdapat di lateral pada bagian dorsal kantung tinta adalah organ cahaya. Posisinya mudah diketahui karena berwarna kontras, yaitu berwarna putih. Ukuran diameter panjang organ cahaya cumi-cumi berkisar antara 2 - 5 mm.

Organ cahaya cumi berbentuk bulat, sebagian terdapat pada permukaan dan sebagian terbenam pada dinding kantung tinta. Organ cahaya yang terdapat pada permukaan berbentuk bulat panjang, cembung, menonjol keluar, strukturnya kenyal, berwarna putih dan bentuk permukaannya halus serta licin. Organ cahaya terdapat pada permukaan dan sebagian terbenam pada dinding kantung tinta, berbentuk seperti bola kecil/kantung, berwarna perak mengkilap, strukturnya tidak keras dan bentuk permukaannya tidak mulus.

Organ cahaya yang terdapat pada permukaan kantung tinta mempunyai ukuran lebih besar dibandingkan organ cahaya yang terbenam pada kantung tinta. Pada organ cahaya yang terbenam pada kantung tinta terdapat cairan warna putih keruh, sehingga organ tersebut disebut kantung organ cahaya.

Organ Cahaya

Histologi organ cahaya

Hasil mikroskop elektron payar (SEM) pada organ cahaya yang berbentuk bola kecil di bagian dalam kantung tinta cumi-cumi dewasa memperlihatkan bahwa kantung memiliki banyak lekukan dan diantara lekukan ada lumen (Gambar. 1). Lekukannya lebih banyak terjadi pada bagian tepi bawah bola sedangkan lekukan di bagian tengah bola lebih sedikit. Ada rongga/lumen lebih besar terjadi di bagian tepi atas bola, dekat dengan organ cahaya di bagian luar kantung tinta. (Gambar. 2). Lumen ini seperti saluran yang berhubungan dengan bagian luar bola. Lumen yang terdapat di antara lekukan berukuran dalam. Di

permukaan lumen terdapat banyak dan bentuk tonjolan ini lebih jelas tampak dari

hasil mikroskop elektron transmisi (TEM).



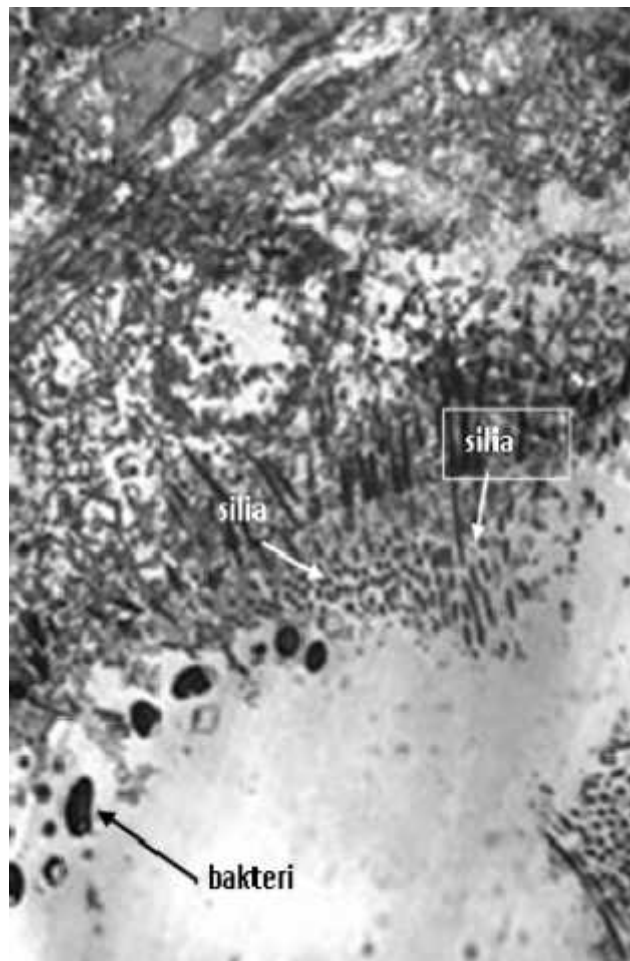
Gambar 1. Mikrografi mikroskop elektron payar/scanning (SEM) organ cahaya cumi-cumi dewasa (50x). Lekukan lebih banyak pada bagian tepi luar bola bagian bawah dibandingkan pada bagian tengah bola. Ada lumen besar terdapat pada tepi luar bola bagian atas dekat kantong tinta. Lumen tersebut seperti saluran panjang.



Gambar 2. Lumen organ cahaya di bagian dalam kantong organ cahaya

Bakteri tidak memiliki rambut getar atau flagela dan bakteri tampak hidup dalam cairan. Ukuran terkecil bakteri berkisar antara 0,30 x 0,50 μm dan terbesar berkisar antara 0,92 x 3,2 μm . Permukaan sel bakteri ada yang berwarna

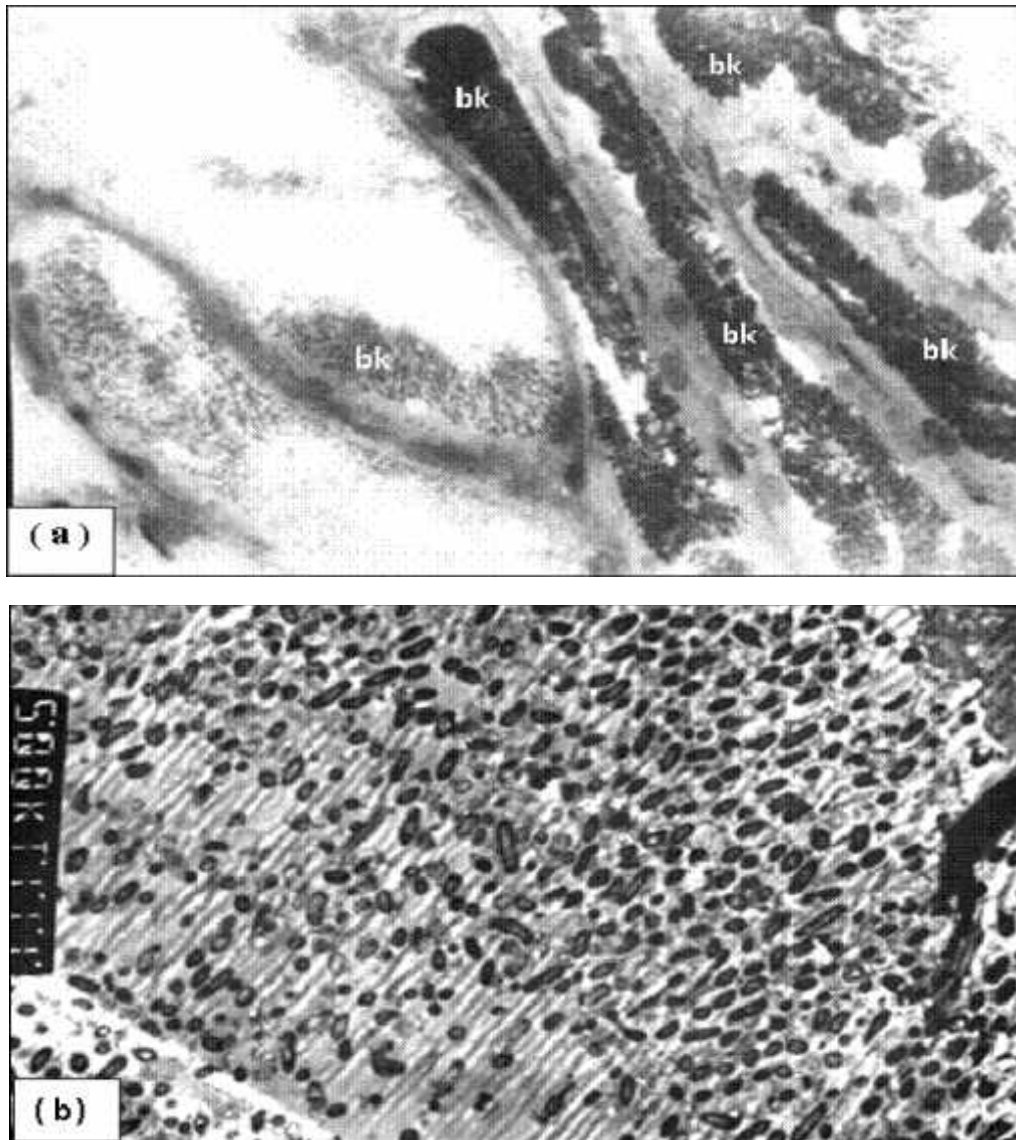
putih terang seperti sedang memancarkan cahaya dan ada yang berwarna gelap. Bakteri berkoloni didekat sel dan bakteri tersebut hidup bersimbiosis dalam lumen organ cahaya atau dengan kata lain ekstra-seluler.



Gambar . 3. Mikrografi mikroskop cahaya memperlihatkan saluran pada organ cahaya (a) mikrografi mikroskop elektron transmisi memperlihatkan tonjolan silia pada saluran (b) 5.500x

Metode mikroskop cahaya pada kantong organ cahaya, memiliki irisan 2.400 dengan ketebalan 2 μm dan ditemukan saluran irisan antara 1.026 sampai 1.368 Artinya saluran ini ditemukan hanya pada bagian tengah kantong dan saluran bersilia sampai permukaan epitel organ cahaya, jadi merupakan saluran yang menghubungkan antara bakteri dari luar ke dalam organ cahaya (Gambar. 3).

Mikrografi mikroskop cahaya pada bagian kantong memperlihatkan bahwa dalam lumen yang dibatasi lekukan pada kantong hadir koloni bakteri. Koloni bakteri tampak hadir dalam setiap lumen dengan kepadatan tinggi pada satu lokasi akan tetapi kurang pada pada lokasi lainnya (Gambar.3a). Mikrografi mikroskop elektron transmisi memperlihatkan koloni bakteri dalam lumen kantong berbentuk batang atau silinder(Gambar. 3b).

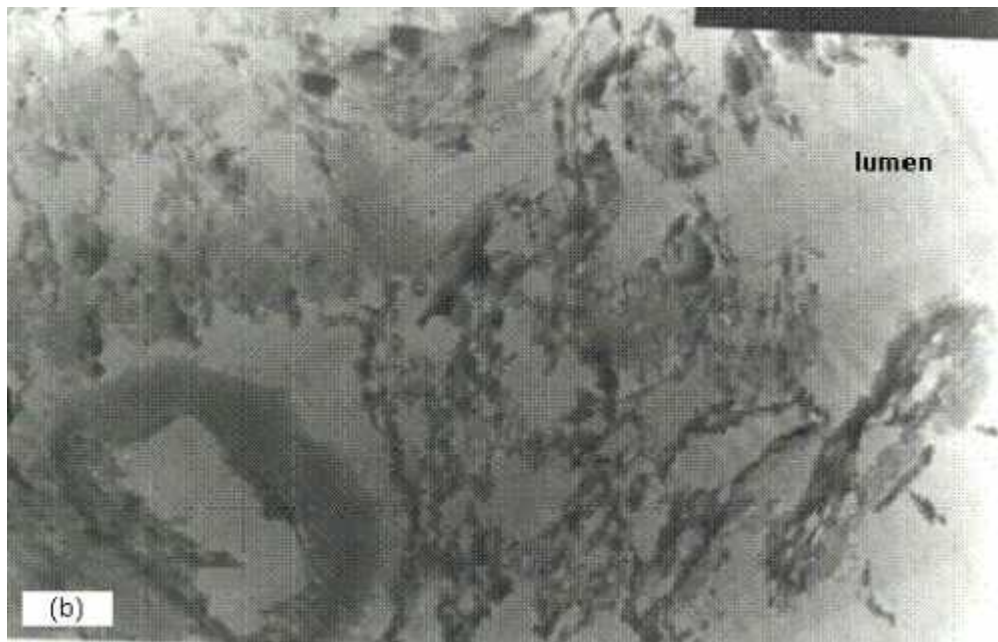
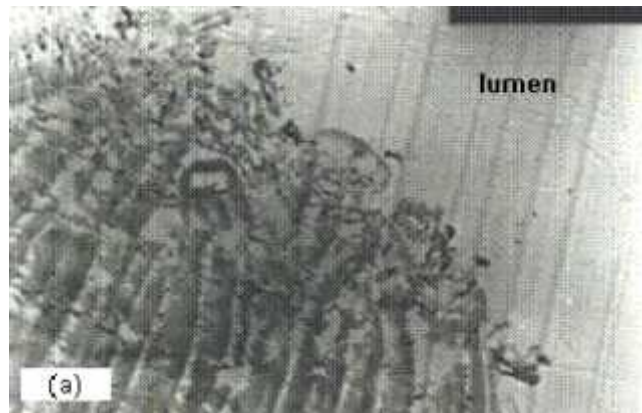


Gambar 4. (a) Mikrografi mikroskop cahaya memperlihatkan koloni bakteri (bk) dalam lumen kantong, (b) mikrografi mikroskop elektron transmisi memperlihatkan bakteri berbentuk panjang atau silinder (4.000x)

Mikrografi mikroskop elektron transmisi pada saluran ditemukan sitoplasma pendek dan panjang yang berjalur (striated border). Mikrografi mikroskop elektron transmisi memperlihatkan bahwa tonjolan tersebut adalah silia dan mikrovili, karena pada silia aksonema kompleks yang dibentuk oleh sepasang mikrotubulus sentral dan dikelilingi oleh 9 pasang mikrotubulus

dan pada mikrovili tidak ada. Selanjutnya tonjolan mikrovili pada hadir pada lumen dekat dengan saluran bersilia (Gambar. 4), yaitu lumen besar yang terdapat pada tepi luar atas bola hasil mikroskop payar pad (SEM).

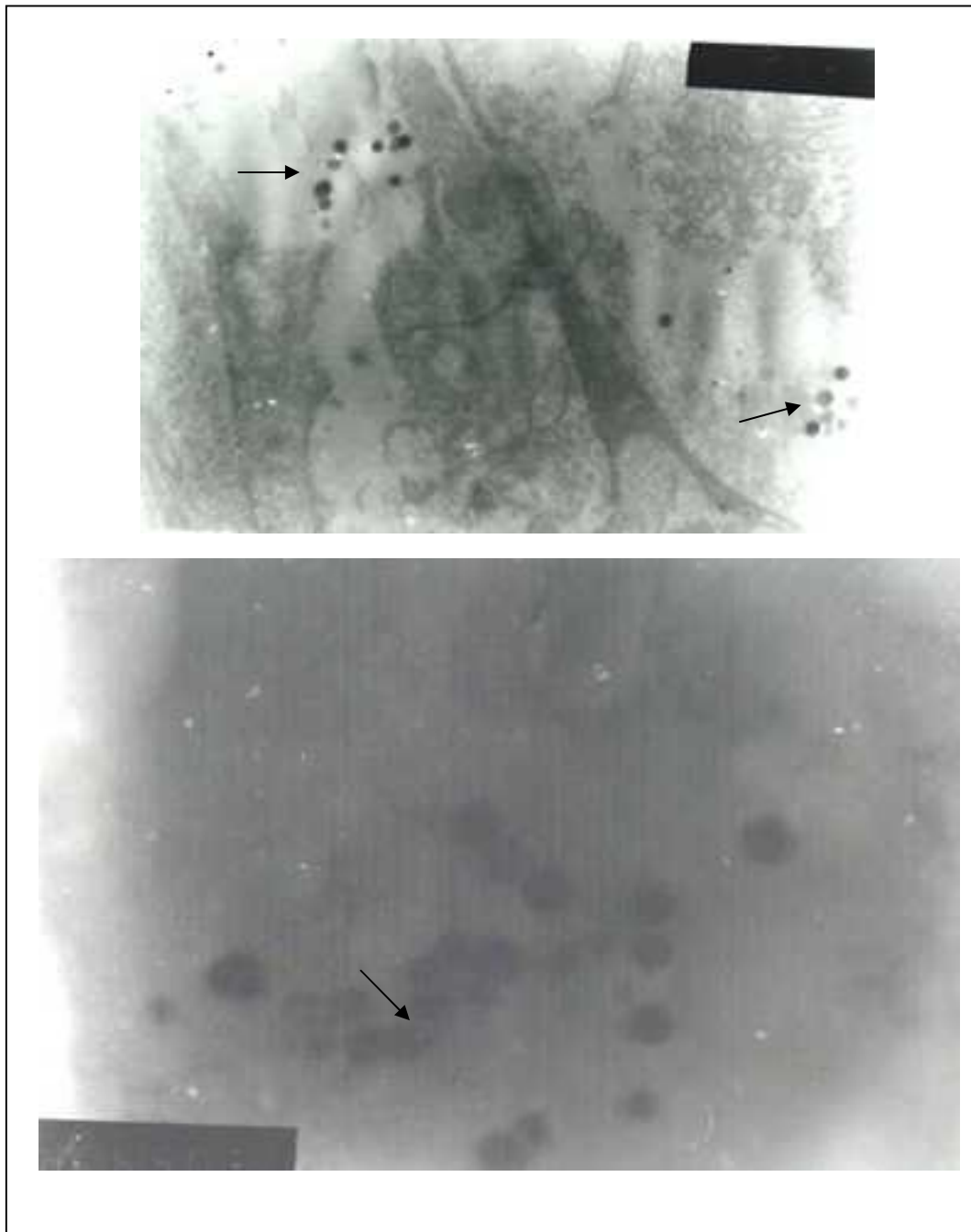
Hasil mikroskop elektron transmisi memperlihatkan bahwa pada cumi-cumi umur 1 hari belum ada bakteri (Gambar. 5).



Gambar. 5. Mikrografi mikroskop elektron transmisi (TEM) pada cumi-cumi umur 1 hari (a) (1.000x), dengan pembesaran tinggi pada lumen memperlihatkan bakteri tidak hadir dalam lumen (b) 4.000x

Berbeda dengan cumi-cumi umur 2 hari, mikrografi mikroskop elektron transmisi memperlihatkan bahwa pada kantong organ cahaya terdapat koloni bakteri pada lumen. Ada perkembangan

sel jaringan dari cumi-cumi umur 1 hari ke cumi-cumi umur 2 hari. Bakteri berbentuk bulat/oval dengan ukuran $\pm 0,30 \mu\text{m}$. (Gambar. 6).



Gambar. 6. Mikrografi mikroskop elektron transmisi (TEM) pada cumi-cumi umur 2 hari memperlihatkan koloni bakteri dalam lumen (8.000x), pembesaran tinggi memperlihatkan koloni bakteri (30.000x); b = bakteri

Kultur murni bakteri hasil isolasi yang ditumbuhkan dalam media agar dapat memancarkan cahaya di dalam ruangan gelap. (Gambar. 7). Fenomena ini

membuktikan bahwa cahaya yang dipancarkan cumi-cumi memang berasal dari bakteri yang hidup dalam kantung organ cahaya.



Gambar. 7: Kultur bakteri dari organ cahaya cumi-cumi *Loligo duvauceli* pada medium Nutrien Agar dalam cawan petri, bakteri memancarkan cahaya ke-biruan dalam ruangan gelap

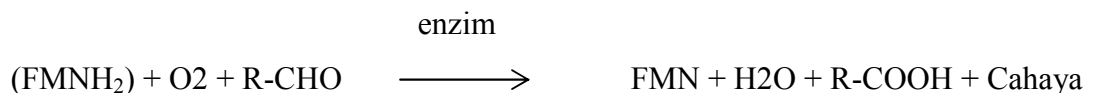
Mekanisme masuknya sel-sel bakteri ke dalam kantung organ cahaya cumi-cumi diperkirakan melalui saluran penghubung bersilia. Hal ini didukung dari hasil pengamatan yang tampak jelas bahwa bakteri yang sama ditemukan di dalam kantung organ cahaya, saluran bersilia dan muara saluran bersilia. Sehingga diyakini bahwa saluran bersilia berfungsi sebagai saluran yang menyalurkan bakteri dari air laut masuk melalui sifon, rongga mantel, muara saluran bersilia (di permukaan luar kantung tinta), saluran bersilia lalu ke kantung organ cahaya.

Bakteri juga ditemukan dalam kantung organ cahaya cumi-cumi juvenil (2 hari). Walaupun tidak dilakukan identifikasi melalui pengujian biokimia terhadap sel-sel bakteri dalam kantung organ cahaya cumi-cumi juvenil (2 hari). Diasumsikan

cumi-cumi *L. duvauceli* memilih bakteri sebagai simbiosis yang tepat untuk kelangsungan hidup hewan tersebut, artinya jenis bakteri lain tidak dapat bersimbiosis. Seperti percobaan yang dibuktikan oleh Ruby (1986) bahwa ketika di air ada bermacam-macam bakteri dan terbukti hanya bakteri *Vibrio fischery* yang bersimbiosis terhadap cumi-cumi *Euprymna scolopes*. Walaupun beberapa spesies konsentrasi bakteri lain $10^5 - 10^6$ sel, sedang *V. fischery* hanya 10^2 sel.

Ada beberapa faktor yang menyebabkan bakteri luminesen melakukan reaksi untuk memancarkan cahaya yaitu: enzim lusiferase, lusiferin tereduksi atau flavin mononukleotida (FMN) tereduksi atau $FMNH_2$, oksigen dan senyawa kompleks aldehida (Colome, 1986).

Bentuk reaksi pada bakteri luminesen memancarkan cahaya adalah sebagai berikut:



Lusiferase bertindak sebagai enzim yang mengontrol kecepatan reaksi sehingga terbentuk lusiferase tereksitasi. Ketika terjadi reaksi elektron menyerap energi, elektron tersebut akan dieksitasikan dari tingkat energi terendah (*ground electron state*) ke tingkat energi di atasnya. Pada tingkat energi yang lebih tinggi, elektron akan tidak stabil dan akan kembali lagi ke keadaan dasarnya yang disebut relaksasi (*resting state*) sambil melepaskan paket energi yang disebut foton dalam bentuk cahaya (Werbiewe *et al*, 1970). Dalam kasus bakteri *P. phosphoreum* maka dalam bentuk lusiferase terkesitasi, bakteri memancarkan cahaya, jadi dalam rekasi ini yang berperan adalah enzim lusiferase (Carey, *et al*, 1984).

Mengapa bakteri belum bersimbiosis pada cumi-cumi umur 1 hari, tapi sudah bersimbiosis pada cumi-cumi umur 2 hari?. Diduga pada cumi-cumi umur 1 hari kondisi dalam kantung organ cahaya belum sempurna atau matang (*immature*), metabolit dalam kantung belum aktif sehingga kantung organ cahaya belum memenuhi syarat bakteri untuk tumbuh dan berkembang. Disamping itu, kondisi lumen yang dilengkapi dengan mikrovili belum berkembang sempurna sehingga belum merupakan niche yang ideal bagi bakteri untuk berkembang biak. Pada cumi-cumi umur 2 hari, metabolit dalam kantung kemungkinan sudah mengalami perkembangan, dimana tampak jumlah sel meningkat yang tentunya dibarengi dengan aktifitas meningkat, metabolit sebagai medium yang dibutuhkan bakteri terproduksi cukup sehingga bakteri berkembang biak dengan cepat. Ditambahkan lagi pada cumi-cumi umur 2 hari sudah terbentuk silia dalam saluran bersilia organ cahaya, sehingga banyak sel bakteri dapat menempel pada silia yang seolah berperan sebagai penangkap sel bakteri sebagai awal proses kolonisasi.

KESIMPULAN

Hasil penelitian membuktikan bahwa cahaya yang dipancarkan cumi *L. duvauceli* berasal dari bakteri jenis *P. phosphoreum*, dan pemancaran cahaya terjadi ketika cumi dalam keadaan tenang di lingkungannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Campbell NA, L. G., Mitchel, and., J. B. Reece., (1994), *Biology concept and connection.*, Third Edition, An Imprint of Addison Wesley Longman, Inc, p. 300-701.
- Carey, L.M, A. Roddriguez, and E. Meighen., (1984). *Generation of fatty acids by an acyl esterase in the bioluminescent system of Photobacterium phosphoreum*, *J, Bio, Chem.* By Am, Soc, Bio chem, Inc, **vol. 259, No. 16**, p. 10216-10221.
- Kishitani, T., (1928). *Preliminary report on the luminous symbiosis in Sepiola birostrata SASAKI.* Proceeding of the Imperial Academy. Japan, **vol. 4**, p. 393-396.
- Meissener, G., (1926). *Bakteriologische untersuchungen über die symbiotischen lauchtbakterien von Sepien aus dem Golf von Neapel*, *Zbl, Bakt*, **vol. 2, No. 67**, p. 194-238.
- Mortara, S., (1922). *È accettaile la teoria simbiotica de ll fotogenesi animale?*, *Rivista, Biol*, **vol. 4**, p. 1-2.
- Mortara, S., (1924). *Sulla biofotogenesi e su alcuni batteri fotogeni*, *Rivista, Biol*, **vol. 6**, p. 323-342.
- Pierantoni, U., (1918). *Organi luminosi, organi simbioticie glandola nidamentale accessori*

- nei cefalopodi, Napoli, Boll, Soc, Nat, vol. 30, p. 30-36.*
- Pierantoni, U., (1924). *Nuove osservazioni su luminescenza e simbiosi, III, Organo luminoso di Heteroteuthis dispar*, R. C. Acad, *Lincei (Ser. 5) vol. 33*, p 61-65.
- Ruby, E.D., (1996). *Lessons from a cooperative, bacterial - animal association: The Vibrio fischery-Euprymna scolopes light organ symbiosis*, *J. Annu. Rev. Microbiol. vol. 50*, p. 591-624.
- Colome, (1986). Colome, J. S., A. M, Kubinski, R. J, Cano, and D. V. Grady., (1986). *Laboratory exercise in Microbiolgy*, West Pub, Co., San Fransisco, p. 20-194
- Werbiewe., F. L., G.E. Holt., B.W. Scaron., (1970). *Physics, A Basic Science*, Fifth edition, Am, Book, Comp, p. 35